



PCT/FR 2004/001907

REC'D 29 OCT 2004

WIPO

PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION**COPIE OFFICIELLE**

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 27 JUIL. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

BEST AVAILABLE COPY

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 43 23
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

► N° Indigo 0 825 83 85 87

0,15 € TTC/min

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

Réservé à l'INPI

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354*03

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE page 1/2

BR1

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

08 540 0 W / 03010

REMISE DES PIÈCES DATE 18 JUIL 2003 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0308796 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI 18 JUIL. 2003		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE Cabinet REGIMBEAU 20, rue de Chazelles 75847 PARIS CEDEX 17 FRANCE	
Vos références pour ce dossier (facultatif) 240571 D21230 ANB			
Confirmation d'un dépôt par télécopie		<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie	
2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N° _____ Date _____	
ou demande de certificat d'utilité initiale		N° _____ Date _____	
Transformation d'une demande de brevet européen		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N° _____ Date _____	
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) UTILISATION D'UNE COMPOSITION COSMETIQUE OU PHARMACEUTIQUE COMPRENANT UN EXTRAIT RICHE EN LUPEOL, A TITRE DE PRINCIPE ACTIF, POUR STIMULER LA SYNTHÈSE DES PROTÉINES DE STRESS.			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)		<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique	
Nom ou dénomination sociale		LABORATOIRES EXPANSCIENCE	
Prénoms			
Forme juridique		SOCIÉTÉ ANONYME	
N° SIREN		331936081	
Code APE-NAF			
Domicile ou siège	Rue	10, avenue de l'Arche 92400 COURBEVOIE	
	Code postal et ville		
	Pays	FRANCE	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)		N° de télécopie (facultatif)	
Adresse électronique (facultatif)			
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»			

Remplir impérativement la 2^{ème} page

**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE
page 2/2

BR2

Réservé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES

DATE

18 JUIL 2003

LIEU

75 INPI PARIS

N° D'ENREGISTREMENT

0308796

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

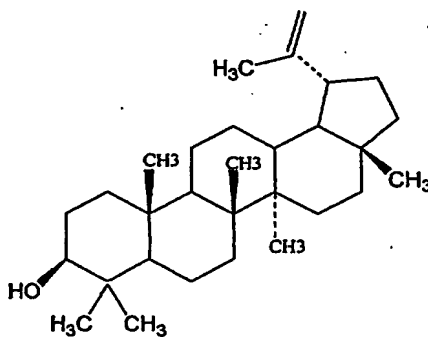
08 540 W / 030103

MANDATAIRE (s'il y a lieu)		240571 ANB	
Nom			
Prénom			
Cabinet ou Société		Cabinet REGIMBEAU	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel			
Adresse	Rue	20, rue de Chazelles	
	Code postal et ville	76847 PARIS CEDEX 17	
	Pays		
N° de téléphone (facultatif)		01 44 29 35 00	
N° de télécopie (facultatif)		01 44 29 35 99	
Adresse électronique (facultatif)		info@regimbeau.fr	
INVENTEUR (S)		Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques	
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)	
RAPPORT DE RECHERCHE		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> Établissement immédiat <input type="checkbox"/> Établissement différé	
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)		Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG	
SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS		<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences	
Le support électronique de données est joint		<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe		<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI M. ROCHET	

La présente invention concerne l'utilisation d'un extrait riche en lupéol pour la fabrication d'une composition pharmaceutique ou cosmétique destinée à traiter et/ou
5 prévenir une dégénérescence des tissus conjonctifs.

Le lupin est une plante assez répandue, que l'on trouve en Europe, en Asie, ainsi qu'en Amérique du Nord et du Sud. Ce végétal est un proche parent du pois, de la fève, du soja et du haricot. Plusieurs espèces de lupin peuvent être citées comme étant les plus
10 connues : *lupinus albus* (lupin blanc), *lupinus angustifolius* (lupin bleu), *lupinus luteus* (lupin jaune), *lupinus mutabilis* (lupin changeant), *lupinus graecus*, *lupinus micranthus* Guss, *lupinus hispanicus*, *lupinus pilosus*, *lupinus cosentinii*, *lupinus atlanticus*, *lupinus princei* et *lupinus somaliensis*. Une des espèces les plus courantes sur le territoire européen est le lupin blanc doux (*lupinus albus*), notamment la variété Arès
15 présentant le gène pauper.

Le lupéol (1) appartient à la famille des triterpènes et plus particulièrement à celle des alcools triterpéniques.



(1)

20 Le lupéol présente un intérêt certain de par ses nombreuses activités biologiques. Il est notamment connu pour ses propriétés anti-inflammatoires (Singh S. et coll., *Filoterapia*, 1997, 68, No. 1, 9) et analgésiques (De Miranda A. L. et coll., *Planta Med*, 2000, 66(3), 284), son action nephroprotectrice vis-à-vis des métaux lourds (Nagaraj M. et coll., *J. Appl. Toxicol*, 2000, 20(5), 413), son action anti-histaminique
25 (De Medrano Villar M. J. et coll., *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, 1997, 19, No.

8, 515), ses activités anti-mitotiques (Zachariah R. et coll., *Indian J. Pharm. Sci.*, 1994, 56, No. 4, 129) et anti-virales (Kahlos K., *Filoterapia*, 1996, 67, No. 4, 344).

Le lupéol est aussi connu pour ses propriétés anti-oxydantes. En effet, le lupéol active la régénération des enzymes anti-oxydantes cutanées, qui ont été endommagées par les
 5 toxines environnementales. De plus, il est un agent chimiopréventif de la peau et il permet la suppression de la toxicité cutanée induite par le peroxyde de benzoyle (Saleem M, et al., 2001, Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor prevention induced by benzoyl peroxide in murine skin, *Pharmacol Res*, 43(2):127-134).

10 Le lupéol permet le contrôle de la prolifération des kératinocytes, et il peut donc être utilisé dans des compositions anti-inflammatoires.

Il a également été trouvé que le lupéol permet de réduire efficacement les risques de formation de calculs et il est donc utilisé dans le traitement des maladies urinaires (Malini MM, et al. (2000) Protective effect of triterpenes on calcium oxalate crystal
 15 induced peroxidative changes in experimental urolithiasis. *Pharmacol Res*. 41(4):413-418).

Le lupéol peut également être utilisé en tant qu'intermédiaire de synthèse, notamment pour la préparation de phyto-hormones et d'analogues de stéroïdes.

Le lupéol est présent dans de nombreux végétaux tels que l'Aloe vera ou l'écorce de
 20 *Crataeva nurvala*. Il a été isolé à plusieurs reprises à partir de plantes diverses comme le Bresk.

Il a également été extrait des coques de lupin. La demande de brevet FR 2 822 821 décrit un extrait de coques de graines de lupin contenant du lupéol, avantageusement, l'extrait présente un taux de lupéol supérieur à 30% en poids, de préférence supérieur à
 25 50% en poids. De manière encore plus avantageuse, l'extrait de coques de graines de lupin présente un taux de lupéol compris entre 70 et 100%.

La demande de brevet FR 2 822 821 décrit également un procédé d'obtention d'un extrait de coques de graines de lupin, qui comprend au moins la succession d'étapes suivantes :

- 30 - broyage des coques de lupin,
- extraction des lipides totaux contenus dans les coques de lupin broyées à l'aide d'un solvant organique choisi dans le groupe constitué par les alcanes

aliphatiques, les alcanes aromatiques, les alcools aliphatiques et leurs dérivés halogénés, et

- purification des lipides obtenus pour obtenir un extrait riche en lupéol.

5 Les protéines du choc thermique (famille des HSP, Heat stress ou shock protein), ci après dénommées protéines de stress et abrégées HSP, sont présentes dans tous les organismes des bactéries jusqu'à l'homme. Il existe 5 groupes majeurs de HSP caractérisés par leur poids moléculaire :

- 20-30 kDa ;
- 10 ▪ 50-60 kDa ;
- 70 kDa ;
- 90 kDa ; et
- 100-110 kDa.

15 L'ubiquitine, ainsi que l'hème oxygénase appartiennent également à la grande famille des HSPs.

Les HSP sont exprimées de manière constitutionnelle dans des conditions physiologiques et possèdent des activités basiques et indispensables à la synthèse protéique, tout en protégeant les cellules de nombreuses agressions telle qu'une élévation de température, le rayonnement ultra-violet, l'ischémie-reperfusion et

20 l'apoptose.

La fonction chaperon des HSP est l'une des grandes fonctions protéiques à avoir été découverte. Initialement mise en évidence dans le cadre d'un stress thermique, la présence de ces protéines à un niveau déjà important dans toutes cellules en l'absence de stress a suggéré qu'elles participaient au repliement normal des protéines. Ces

25 chaperones sont capables d'inhiber l'agrégation de protéines partiellement dénaturées et de les replier en utilisant de l'ATP. Elles empêchent les associations inappropriées de protéines, et sont impliquées dans le transport intracellulaire et la sécrétion des protéines.

L'HSP47 est une protéine localisée dans le réticulum endoplasmique des cellules

30 (compartiment de la synthèse protéique) et elle se fixe spécifiquement sur différents types de collagène et de pro-collagène, notamment de type I, II, III, IV et V. L'HSP47 est impliquée dans le « système contrôle qualité » de la cellule, empêchant que cette

dernière ne sécrète du pro-collagène avec une structure inadéquate. Une corrélation entre sur-expression du collagène et de l'HSP47 a été démontrée chez l'homme.

Les collagènes représentent environ 30% des protéines totales et sont les constituants majeurs de la matrice extracellulaire des tissus conjonctifs tels que le derme (70% des protéines de la matrice extracellulaire), le cartilage ou le tissu conjonctif gingival (60 à 65% des protéines). A ce jour, 19 types de collagène différents ont été décrits. Par définition, ils possèdent des domaines en triple hélice en proportions variables et forment des structures organisées au sein de la matrice extracellulaire comme des fibrilles, des filaments ou des réseaux. Les collagènes sont synthétisés à partir d'un pro-collagène par les cellules conjonctives telles que les fibroblastes dermiques et gingivaux, ainsi que par les chondrocytes au niveau du cartilage articulaire. Les fibres de collagène synthétisées se renforcent et s'assemblent en faisceaux qui constituent la fibre collagène définitive et insoluble, qui pourra répondre dans l'avenir aux contraintes de traction.

Les tissus conjonctifs jouent un rôle majeur en tant que support et soutien pour les autres éléments constitutifs de l'organe et en tant qu'absorbeur de choc. Par exemple le tissu conjonctif gingival assure le soutien des dents. Au niveau cutané, le derme est notamment responsable de la fermeté de la peau.

Une dégénérescence des tissus conjonctifs, liée à une altération du réseau collagénique, telle qu'une inhibition de la synthèse du collagène et/ou du pro-collagène, une synthèse imparfaite du collagène et/ou du pro-collagène, une dégradation des fibres de collagène, une diminution du nombre des fibroblastes et de leur métabolisme, peuvent donc avoir des conséquences importantes.

La Demanderesse a découvert qu'un extrait riche en lupéol peut également être utilisé pour stimuler la synthèse des protéines de stress et plus particulièrement pour stimuler la synthèse de l'HSP47 (Heat Shock Protein 47) afin de traiter et/ou de prévenir la dégénérescence des tissus conjonctifs relative à des processus internes et/ou à des agressions extérieures.

La Demanderesse a ainsi découvert qu'un extrait riche en lupéol peut permettre de contrôler la structure normale du collagène, via la stimulation de la synthèse de

l'HSP47, lorsque la peau et/ou les articulations et/ou les tissus conjonctifs gingivaux sont soumis à un environnement stressant. Cet environnement stressant peut être une contrainte physique, induite par exemple par une prise de poids pouvant notamment entraîner une variation du phénotype et du métabolisme des fibroblastes, une
5 expositions aux radiations, notamment aux radiations UV, une sénescence ou une inflammation.

Par le terme d'extrait "riche en lupéol", on entend au sens de la présente invention, un extrait présentant un taux de lupéol supérieur à 30% en poids, avantageusement supérieur à 50% en poids, et de manière encore plus avantageuse compris entre 70 et
10 100% en poids.

La présente invention a pour principal objet l'utilisation d'un extrait riche en lupéol pour la fabrication d'une composition cosmétique ou pharmaceutique destinée à traiter et/ou prévenir la dégénérescence des tissus conjonctifs au niveau du derme et/ou du
15 cartilage, et/ou du tissu conjonctif gingival, liée à une anomalie de la production du collagène.

Un extrait riche en lupéol selon la présente invention peut ainsi être utilisé dans une composition cosmétique destinée à traiter et/ou prévenir la dégénérescence des tissus conjonctifs au niveau du derme et/ou du cartilage, et/ou du tissu conjonctif gingival.

20 Un extrait riche en lupéol peut également être utilisé pour la fabrication d'un médicament destiné à traiter et/ou prévenir la dégénérescence des tissus conjonctifs au niveau du derme et/ou du cartilage, et/ou du tissu conjonctif gingival.

Dans le cadre de la présente invention, on parlera indifféremment de composition pharmaceutique ou de médicament.

25 Au sens de la présente invention, on entend par « anomalie de la production du collagène », une synthèse insuffisante du collagène et/ou du pro-collagène par les fibroblastes ou les chondrocytes, une synthèse imparfaite des collagènes et/ou des pro-collagènes, une dégradation des fibres de collagènes, une diminution du nombre de fibroblastes ou de chondrocytes et de leur métabolisme.

30 Au sens de la présente invention, on entend par « synthèse imparfaite » du collagène, toute synthèse d'un collagène ou pro-collagène présentant des anomalies de structure,

ne pouvant plus notamment remplir sa fonction de soutien mécanique de la peau et/ou des articulations et/ou des tissus conjonctifs gingivaux.

L'anomalie de la production du collagène peut être induite par un facteur stress interne ou externe. Par exemple, sous une contrainte physique, telle qu'une prise de poids, une surcharge pondérale, une distension des tissus notamment dans le cadre d'une grossesse, à la suite d'une irradiation, notamment aux rayons ultraviolets, suite à une inflammation ou dans un état de sénescence, les fibroblastes ou les chondrocytes, soumis à ces contraintes externes, peuvent synthétiser du collagène de structure anormale.

10 L'anomalie de la production du collagène peut notamment être une inhibition de la synthèse ou une synthèse imparfaite des pro-collagènes et collagènes, en particulier des pro-collagènes et/ou collagènes du type I, II, III, IV ou V.

L'extrait riche en lupéol selon la présente invention joue le rôle d'un promoteur de la synthèse des protéines de stress, notamment de la synthèse de l'HSP47. Cette activation des protéines de stress, avantageusement de l'HSP47, permet de stimuler le métabolisme et la prolifération des fibroblastes et des chondrocytes et ainsi de lutter contre et/ou de prévenir la dégénérescence du réseau collagénique.

15 La composition cosmétique selon l'invention est destinée à stimuler la synthèse des protéines de stress HSP, en particulier la synthèse de l'HSP47, et ainsi l'activité des fibroblastes et des chondrocytes.

La composition pharmaceutique ou le médicament selon l'invention est destiné à stimuler la synthèse des protéines de stress HSP, en particulier la synthèse de l'HSP47, et ainsi l'activité des fibroblastes et des chondrocytes.

25 Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition pharmaceutique ou le médicament est destiné à traiter et/ou prévenir les pathologies articulaires, notamment les pathologies articulaires non inflammatoires.

Les pathologies articulaires sont caractérisées par un déséquilibre entre la synthèse et la dégradation de la matrice extracellulaire qui entoure les chondrocytes. Le cartilage articulaire, qui est principalement constitué d'un réseau de fibres de collagène, d'un gel de protéoglycanes hydrophiles et de chondrocytes, joue un double rôle mécanique essentiel pour la protection de l'os sous-chondral. D'une part il diminue les forces de

frottement lors du déplacement des segments osseux et, d'autre part, il assure la transmission, la répartition et l'amortissement des contraintes subies par l'articulation.

A l'âge adulte, le renouvellement du réseau collagénique au sein du cartilage articulaire est très faible. Il est donc important de pouvoir stimuler la synthèse des collagènes et des pro-collagènes et/ou atténuer une altération du réseau collagénique, qui sont les constituants majeurs du cartilage. La composition pharmaceutique selon la présente invention permet la stimulation de la synthèse de l'HSP47 qui permet ainsi de lutter contre et/ou de prévenir la dégénérescence du tissu conjonctif du cartilage articulaire.

- 10 Avantageusement, le médicament selon l'invention est destiné à prévenir et/ou traiter l'arthrose, qui peut être due à une lésion primitive du cartilage avec modification de la structure des tissus conjonctifs et une diminution des protéoglycannes.

- 15 Le médicament ou la composition pharmaceutique selon l'invention est également destiné à prévenir et/ou traiter les maladies parodontales. Particulièrement, la composition pharmaceutique selon l'invention est destinée à prévenir et/ou traiter la gingivite ou la parodontite.

- 20 Les maladies parodontales, dont la conséquence ultime est la perte de la dent, se traduisent notamment par une dégénérescence des tissus conjonctifs gingivaux. Le tissu conjonctif gingival est composé de 60 à 65 % de collagènes. La composition pharmaceutique selon la présente invention permet de lutter et/ou de prévenir la dégénérescence du tissu conjonctif gingival, via une stimulation de la synthèse de l'HSP47 qui va permettre de promouvoir l'expression du collagène.

- 25 Selon une autre variante avantageuse de l'invention, le médicament selon l'invention est destiné à la prévention et/ou au traitement des vergetures.

- 30 Les vergetures peuvent être considérées comme une atteinte de la cellule fibroblastique caractérisée notamment par une inhibition de l'expression des gènes codants pour la fibronectine, les collagènes de type I et II et une transformation des fibroblastes en myofibroblastes sous l'effet des distensions mécaniques. Cette dégénérescence du tissu collagénique conduit à la formation d'une cicatrice dermique atrophique. Un des principaux facteurs déclenchant est le stress mécanique.

La composition pharmaceutique selon la présente invention est avantageusement à application topique. On entend par application topique aussi bien une application de la composition au niveau de la peau qu'au niveau buccal, notamment au niveau des gencives.

- 5 La composition pharmaceutique selon l'invention se caractérise en ce que la concentration en extrait riche en lupéol est comprise entre 0,001% et 10 % en poids, par rapport au poids total de la composition pharmaceutique.

- 10 La composition cosmétique selon la présente invention permet de favoriser la résistance au stress et aux contraintes mécaniques de la peau et/ou des articulations et/ou des tissus conjonctifs gingivaux.

Ladite composition cosmétique permet aux tissus conjonctifs de résister au stress sous une contrainte physique, telle qu'une prise de poids, une surcharge pondérale, une distension des tissus notamment dans le cadre d'une grossesse, une irradiation,

15 notamment aux ultra-violets.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition cosmétique est utile en tant qu'agent cicatrisant de la peau et/ou des articulations et/ou des tissus conjonctifs gingivaux. En effet, la composition cosmétique selon l'invention permet de stimuler l'activité des fibroblastes et des chondrocytes, qui synthétisent le collagène nécessaire

20 pour combler la perte de substance par un nouveau tissu.

La composition cosmétique est avantageusement utilisée pour notamment prévenir et/ou traiter les vergetures ou leur apparition.

Selon une autre variante avantageuse de l'invention, la composition cosmétique est utile en tant qu'agent restructurant de la peau.

- 25 La composition cosmétique est également avantageusement utile en tant qu'agent anti-relâchement de la peau. Le vieillissement cutané est notamment caractérisé par une diminution de nombre de fibroblastes ainsi que par une diminution de leur activité. La composition cosmétique selon l'invention permet de stimuler le métabolisme et la prolifération des fibroblastes. Elle est donc avantageusement utilisée pour prévenir
- 30 et/ou retarder le vieillissement cutané chronologique, extrinsèque, notamment dû au soleil, au tabac, à la pollution, au stress, et ménopausique.

La composition cosmétique selon l'invention agit au niveau du derme de la peau.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition cosmétique est destinée aux femmes enceintes.

La composition cosmétique peut aussi être utilisée en tant que bain de bouche ou pâte dentifrice.

- 5 Au sens de la présente invention, l'expression « pâte dentifrice » inclut toutes les formulations classiques de dentifrice, que ce soit notamment sous la forme d'un gel de dentifrice, d'une pâte de dentifrice ou d'une combinaison pâte et gel de dentifrice.

- 10 La composition cosmétique est avantageusement à application topique. On entend par application topique aussi bien une application de la composition au niveau de la peau qu'au niveau buccal, notamment au niveau des gencives.

La composition cosmétique selon l'invention se caractérise en ce que la concentration en extrait riche en lupéol est comprise entre 0,001 et 10% en poids, par rapport au poids total de la composition cosmétique.

- 15 L'extrait riche en lupéol présente un taux de lupéol supérieur à 30% en poids, avantageusement supérieur à 50% en poids, et de manière encore plus avantageuse compris entre 70 et 100% en poids.

- 20 Ainsi, la composition cosmétique selon l'invention se caractérise en ce que la concentration en lupéol est comprise entre 0,0003 et 10% en poids, avantageusement entre 0,007 et 10% en poids, par rapport au poids total de la composition cosmétique.

- 25 La composition qui permet la mise en oeuvre de l'invention comprend un support cosmétiquement acceptable, c'est à dire un support compatible avec la peau et peut se présenter sous toutes les formes galéniques normalement utilisées pour une application topique, notamment sous forme d'une solution aqueuse, hydroalcoolique ou huileuse, d'une émulsion huile-dans-eau ou eau-dans-huile ou multiple, d'un gel aqueux ou huileux, d'un produit anhydre liquide, pâteux ou solide, d'une dispersion d'huile dans une phase aqueuse à l'aide de sphérules, ces sphérules pouvant être des nanoparticules polymériques telles que les nanosphères et les nanocapsules ou mieux des vésicules lipidiques de type ionique et ou non-ionique, d'un dispositif trans-dermique ou sous
30 toute autre forme pour application topique.

Cette composition peut être plus ou moins fluide et avoir l'aspect d'une crème blanche ou colorée, d'une pommade, d'un lait, d'une lotion, d'un sérum, d'une pâte, d'une mousse ou d'un gel.

Elle peut éventuellement être appliquée sur la peau sous forme d'aérosol. Elle peut également se présenter sous forme solide, et par exemple sous forme de stick. Elle peut aussi être appliquée au moyen d'un patch.

Avantageusement, le milieu cosmétiquement acceptable est une solution huileuse, une émulsion eau-dans-huile, une émulsion huile-dans eau, une microémulsion, un gel huileux, un gel anhydre, une dispersion de vésicules, de microcapsules ou de microparticules, un dispositif trans-dermique

La composition selon l'invention peut contenir également les adjuvants habituels dans le domaine cosmétique, tels que les gélifiants hydrophiles ou lipophiles, les actifs hydrophiles ou lipophiles, les épaississants, les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les agents chélateurs, les absorbeurs d'odeur, des filtres chimiques ou minéraux, des pigments minéraux, les tensioactifs, les polymères, les huiles de silicone et les matières colorantes. Les quantités de ces différents adjuvants sont celles classiquement utilisées dans les domaines considérés, et par exemple de 0,01 à 20% du poids total de la composition. Ces adjuvants, selon leur nature, peuvent être introduits dans la phase grasse, dans la phase aqueuse, dans les vésicules lipidiques et ou dans les nanoparticules.

Lorsque la composition de l'invention est une émulsion, la proportion de la phase grasse peut aller de 5 à 80% en poids, et de préférence de 5 à 50% du poids total de la composition. Les huiles, les émulsionnants et les coémulsionnants utilisés dans la composition sous forme d'émulsion sont choisis parmi ceux classiquement utilisés dans le domaine considéré. L'émulsionnant et le coémulsionnant sont présents, dans la composition, en une proportion allant de 0,3 à 30% en poids, et de préférence de 0,5 à 20% du poids total de la composition.

Comme huiles utilisables dans les compositions permettant de mettre en œuvre l'invention, on peut citer les huiles minérales, les huiles d'origine végétale (huile d'abricot, huile de tournesol, de prune), les huiles d'origine animale, les huiles de synthèse, les huiles siliconées et les huiles fluorées (perfluoropolyéthers). On peut

aussi utiliser comme matières grasses des alcools gras (alcool cétylique), des acides gras, des cires (cire d'abeilles).

Comme émulsionnants et coémulsionnants utilisables dans l'invention, on peut citer par exemple les esters d'acide gras et de polyéthylène glycol tels que le stéarate de PEG-40, le stéarate de PEG-100, les esters d'acide gras et de polyol tels que le stearate
5 de glycéryle et le tristéarate de sorbitane.

Comme gélifiants hydrophiles, on peut citer en particulier les polymères carboxyvinyliques (carbomer), les copolymères acryliques tels que les copolymères d'acrylates/alkylacrylates, les polyacrylamides, les polysaccharides, les gommes
10 naturelles et les argiles, et, comme gélifiants lipophiles, on peut citer les argiles modifiées comme les bentones, les sels métalliques d'acides gras, la silice hydrophobe et les polyéthylènes.

Les modes d'administration, les posologies et les formes galéniques optimales des composés et compositions selon l'invention peuvent être déterminés selon les critères
15 généralement pris en compte dans l'établissement d'un traitement cosmétique, de préférence dermatologique, adapté à un patient comme par exemple le poids corporel du patient, l'excès de graisse constaté, l'aspect du tissu cellulitique, la tolérance au traitement, le type de peau.

20 La composition utilisée selon l'invention peut contenir d'autres actifs.

Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention, le lupéol est obtenu à partir de coques de lupin avantageusement choisi dans le groupe constitué par le
lupinus angustifolius, le lupinus albus, le lupinus luteus, le lupinus mutabilis, le
25 lupinus graecus, le lupinus micranthus Guss, le lupinus hispanicus, le lupinus pilosus, le lupinus cosentinii, le lupinus atlanticus, le lupinus princei et le lupinus somaliensis.
Selon une variante avantageuse de l'invention, le lupéol est obtenu à partir de coques de lupinus albus, de préférence le lupinus albus de variété très portant le gène pauper.

30 Les exemples suivants illustrent la présente invention sans en limiter la portée.

EXEMPLE 1 : Composition d'un extrait riche en lupéol

Le tableau 1 suivant donne une composition particulière d'extrait riche en lupéol utilisé dans le cadre de la présente invention, ainsi que les spécifications que doit
 5 satisfaire un extrait de lupéol pour pouvoir être considéré comme étant un extrait riche en lupéol selon la présente invention.

Critère de composition	Résultats	Spécifications
Aspect	Solide beige à jaune clair	Solide beige à jaune clair
Teneur en lupéol (g/100g)	84,7	75,0-90,0
Teneur en stérols totaux (g/100g)	12,2	8,0-20,0
Composition relative en stérols (%)		
Béta-sitostérol	72,9	65,0-80,0
Campestérol	5,7	2,0-10,0
Stigmastérol	21,4	15,0-30,0
Perte à la dessiccation (g/100g) (1)	0,03	< 0,2

Tableau 1

10 (1) 1 heure à 105°C

EXEMPLE 2: Effets du lupéol sur l'expression du gène codant pour la protéine de stress HSP47.

15 Nous avons utilisé la méthode des « cDNA micro array » pour étudier les effets du produit sur l'expression des gènes codant pour des protéines structurales et régulatrices d'intérêt potentiel dans la physiologie cutanée. Une telle approche permet de « screener » en une seule étape les effets d'un produit ou d'un traitement sur
 20 l'expression des gènes dans un système biologique donné et d'avoir une signature des effets de ce traitement.

Conditions de culture et produits à l'essai

Le produit a été appliqué sur des fibroblastes cutanés humains cultivés dans du
 25 MEM/M199 pendant 18 heures. Le lupéol, en solution dans l'éthanol a été testé à la

concentration de 4,5 µg/ml, cette concentration correspond à une dose non cytotoxique.

Analyse de l'expression différentielle des gènes

- 5 La méthodologie utilisée est celle préconisée par Clontech (Palo Alto, USA), et comprend :
 - une étape d'extraction et de purification des ARN totaux ;
 - une étape de purification des ARN messagers selon le protocole AtlasPure (Clontech) ;
 - 10 - le marquage des sondes ADN au P³² par reverse-transcription ;
 - la purification des sondes marquées par chromatographie sur colonne d'exclusion et vérification de la qualité et de l'équivalence par comptage en scintillation liquide ; et
 - hybridation des membranes (fournies par la société Custom ATLAS
 - 15 BIOAlternative) avec les sondes radio-marquées (68°C, une nuit).

Analyse des résultats

L'analyse des membranes a lieu par quantification directe de la radioactivité des spots à l'aide d'un PhosphoImager Cyclone (fourni par la société Packard Instrument).

- 20 Les résultats sont exprimés en unités relatives (UR, radioactivité moyenne des points du double spot correspondant à chaque gène, corrigé du bruit de fond et des différences d'intensité de marquage des sondes). Dans cette expérience, on a considéré de façon arbitraire qu'un gène était exprimé de façon significative lorsque son UR était supérieur ou égale à 2.
- 25 Les résultats ont été analysés au cas par cas, marqueur par marqueur. Arbitrairement, la limite de significativité a été fixée à environ +30% du contrôle pour un effet stimulant, c'est-à-dire pour un effet supérieur à 130%.

Résultats

- 30 Dans nos conditions expérimentales, une incubation de 18 heures en présence de 4,5 µg/ml de lupéol induit une régulation positive de l'expression du gène codant pour l'HSP47 (cf tableau 2).

	Cellules contrôles	Cellules + Lupéol 4,5 µg/ml, 18 heures
UR	28,2	36,4 (129% du contrôle)

Tableau 2

Conclusion

- 5 Les résultats de l'exemple 2 suggère que le lupéol pourrait de manière tout à fait inattendue stimuler le gène codant pour la protéine de stress HSP47 dans des fibroblastes cutanés humains en culture.

10 **EXEMPLE 3: Effets du lupéol sur l'expression de la protéine de stress HSP47 dans un modèle de fibroblastes en culture**

Afin de vérifier cette stimulation potentielle de l'HSP47 révélée par le screening, nous avons étudié l'expression de la protéine HSP47 par la technique du western-blot.

- 15 Cette technique consiste en :

- une séparation des différentes protéines sur un gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes ;
- un transfert des protéines sur une membrane spécifique (membrane PVDF, commercialisée par la société Biorad) ;
- 20 - un Marquage de la protéine d'intérêt par un anti-corps spécifique (HSP47, Stressgen) ;
- une Révélation « colorimétrique » (Sigma Fast, BCPIP/NBT).

Différentes concentrations non cytotoxiques (5, 10 et 20 µg/ml), ainsi que plusieurs temps d'incubation (24 et 48 heures) ont été testés.

- 25 Dans nos conditions expérimentales, nous avons enregistré une stimulation de la production d'HSP47 pour une dose de 20 µg/ml et un temps d'incubation de 48h.

Les inventeurs ont montré, de manière tout à fait surprenante, en utilisant la technique des micro arrays, ainsi que la technique du western-blot, que le lupéol stimulait la production de l'HSP47 au niveau transcriptionnel (ARNm) et traductionnel, c'est-à-

- 30 dire au niveau des protéines.

Dans les exemples 4 à 7 suivants, les proportions sont données en pourcentage (p/p) et les abréviations QS signifient Quantité Suffisante, QSP signifient Quantité Suffisante Pour.

5

EXEMPLE 4 : Bain de bouche

	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
10	Alcool éthylique	10%
	Glycérine	10%
	Huile de ricin hydrogénée, Ethoxylée à 40 moles EO (Crémophor co410)	0,5%
15	Poly(Méthyl vinyl ether/Acide Maléique (Gantrez S97BF)	0,2%
	Soude	0,15%
	Fluorure de sodium	0,05%
	Arôme Cannelle-Menthe	0,1%
20	Triclosan	0,03%
	Chlorure de zinc	0,01%
	Saccharine sodique	0,01%
	Colorant C.I. 16255 (E 124)	0,0025%
	Eau purifiée	QSP 100%

25

EXEMPLE 5 : Pâte dentifrice

	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	Monofluorophosphate de sodium	0,75%
5	Fluorure de Sodium	0,10%
	Sorbitol à 70%	35%
	Silice synthétique à fort pouvoir abrasif	13%
	Silice synthétique à faible pouvoir abrasif	5%
	Carboxymethylcellulose sodique	1,6%
10	Lauryl sulfate de sodium	1%
	Arôme mentholé	0,85%
	Oxyde de titane	0,5%
	Lessive de soude	0,5%
	Cyclamate de sodium	0,3%
15	Menthol	0,15%
	Saccharine sodique	0,07%
	Eau purifiée	QSP 100%

EXEMPLE 6 : Crème anti-vergeture

	Eau	QSP 100%
	Acide Lactique	10,0%
	Triéthanolamine	7,5%
5	Cyclométhicone	5,4%
	Ethylhexyle Palmitate	4,5%
	Glycérides de Coco Hydrogénés	3,0%
	Méthylsilanol de Lactate de Sodium	3,0%
	Propylène Glycol	2,5%
10	Néopentanoate Isodécylique	2,0%
	Protéine Hydrolysée de Soja	2,0%
	Stéarate de Glycérol	1,7%
	Alcool Arachidique	1,6%
	Alcool Cétylique	1,3%
15	Acide Stéarique	1,0%
	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	Alcool Béhénylique	0,9%
	Polyacrylamide	0,8%
	Extrait de feuilles de Sophora Japonica	0,5%
20	Glucoside Arachidique	0,4%
	Cire d'abeille	0,4%
	Isoparaffine C13-14	0,4%
	DEA-Phosphate Cétylique	0,3%
	Gluconate de Zinc	0,2%
25	Glycérine	0,1%
	Alcool Cétéarylique	0,1%
	Palmitate Cétylique	0,1%
	Glycérides de Coco	0,1%
	Laureth-7	0,1%
30	Extrait d'Enteromorpha Compressa	0,1%
	Parfum	QS
	Conservateurs	QS

EXEMPLE 7 : Gel restructurant

	Eau	QSP 100%
	PEG-6	3,60%
5	Butylène glycol	2,70%
	Dextrine	1,86%
	Triméthicone de Phényl	1,20%
	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	crosspolymère Acrylates/ acrylate d'alkyl C10-30	0,60%
10	Crosspolymère Diméthicone/ Diméthicone de Phényle vinyle	0,30%
	Extrait de Fleurs de Sophora Japonica	0,20%
	Gomme Xanthane	0,15%
	PPG 26-Buteth-26	0,11%
	4,5,7-Trihydroxyisoflavone	0,10%
15	Protéine de Soja Hydrolysée	0,10%
	Glucose	0,08%
	Huile de ricin hydrogénée PEG 40	0,07%
	Sorbitol	0,04%
	Extrait de Centella Asiatica	0,04%
20	Glycérine	0,04%
	Acide Citrique	0,02%
	Extrait d'Enteromorpha Compressa	0,02%
	Parfum	QS
	Conservateurs	QS

Revendications

1. Utilisation d'un extrait riche en lupéol pour fabriquer une composition pharmaceutique ou cosmétique, destinée à traiter ou prévenir une
5 dégradation des tissus conjonctifs, au niveau du derme et/ou du cartilage, notamment du cartilage articulaire, et/ou du tissu conjonctif gingival, liée à une anomalie de la production de collagène, en particulier du collagène du type I, II, III, IV ou V.
- 10 2. Utilisation selon la revendication 1 pour activer la synthèse des protéines de stress, notamment de l'HSP47.
- 15 3. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique est destinée à traiter et/ou prévenir les pathologies articulaires, telles que l'arthrose, les maladies parodontales, telles que la gingivite ou la parodontite, à traiter les vergetures ou à prévenir leur apparition.
- 20 4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 de la composition cosmétique, en tant qu'agent cicatrisant, agent restructurant et agent anti-relâchement de la peau et/ou des muqueuses.
- 25 5. Utilisation selon la revendication 4, caractérisée en ce que la composition cosmétique permet aux tissus conjonctifs de résister au stress sous une contrainte physique telle qu'une prise de poids, une surcharge pondérale, une distension desdits tissus notamment dans le cadre d'une grossesse, une irradiation, notamment aux ultra-violets.
- 30 6. Utilisation selon la revendication 4 ou 5, pour prévenir et/ou retarder le vieillissement cutané, pour prévenir et/ou traiter les vergetures ou leur apparition.

Revendications

1. Utilisation d'un extrait riche en lupéol pour fabriquer une composition pharmaceutique ou cosmétique, destinée à traiter ou prévenir une
5 dégradation des tissus conjonctifs, au niveau du derme et/ou du cartilage, notamment du cartilage articulaire, et/ou du tissu conjonctif gingival, liée à une anomalie de la production de collagène, en particulier du collagène du type I, II, III, IV ou V.
- 10 2. Utilisation selon la revendication 1 pour activer la synthèse des protéines de stress, notamment de l'HSP47.
- 15 3. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique est destinée à traiter et/ou prévenir les pathologies articulaires, telles que l'arthrose, les maladies parodontales, telles que la gingivite ou la parodontite, à traiter les vergetures ou à prévenir leur apparition.
- 20 4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 2 de la composition cosmétique, en tant qu'agent cicatrisant, agent restructurant et agent anti-relâchement de la peau.
- 25 5. Utilisation selon la revendication 4, caractérisée en ce que la composition cosmétique permet aux tissus conjonctifs de résister au stress sous une contrainte physique telle qu'une prise de poids, une surcharge pondérale, une distension desdits tissus notamment dans le cadre d'une grossesse, une irradiation, notamment aux ultra-violets.
- 30 6. Utilisation selon la revendication 4 ou 5, pour prévenir et/ou retarder le vieillissement cutané, pour prévenir et/ou traiter les vergetures ou leur apparition.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, caractérisée en ce que la composition cosmétique est destinée aux femmes enceintes.
8. Utilisation selon la revendication 4, de la composition en tant que bain de bouche ou pâte dentifrice.
9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 8, caractérisée en ce que la composition cosmétique est à application topique.
10. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 9, caractérisée en ce que la composition cosmétique comprend entre 0,001 et 10% en poids d'extrait riche en lupéol.
11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'extrait présente un taux de lupéol supérieur à 30% en poids, de préférence supérieur à 50% en poids.
12. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'extrait présente un taux de lupéol compris entre 70 et 100% en poids.
13. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le lupéol est obtenu à partir des coques de lupinus albus, de préférence le lupinus albus de variété Arès portant le gène pauper.



DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg

75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11235*03

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° .1./1..

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DS 113 W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)

240571 D21230 ANB

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

0308796

TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

UTILISATION D'UNE COMPOSITION COSMETIQUE OU PHARMACEUTIQUE COMPRENANT UN EXTRAIT RICHE EN LUPEOL, A TITRE DE PRINCIPE ACTIF, POUR STIMULER LA SYNTHÈSE DES PROTEINES DE STRESS.

LE(S) DEMANDEUR(S) :

LABORATOIRES EXPANSCIENCE : 10, avenue de l'Arche 92400 COURBEVOIE - FRANCE

DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :

<input checked="" type="checkbox"/> 1		Nom	MSIKA Philippe	
		Prénoms		
Adresse	Rue	1, Petite Place		
	Code postal et ville	78000 VERSAILLES, FR		
		Société d'appartenance (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/> 2		Nom	PICCIRILLI Antoine	
		Prénoms		
Adresse	Rue	39, avenue des Etats-Unis		
	Code postal et ville	78000 VERSAILLES, FR		
		Société d'appartenance (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/> 3		Nom	PICCARDI Nathalie	
		Prénoms		
Adresse	Rue	47, rue Chapotier		
	Code postal et ville	38120 Saint EGREVE, FR		
		Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

DATE ET SIGNATURE(S)
DU (DES) DEMANDEUR(S)
OU DU MANDATAIRE
(Nom et qualité du signataire)

17.07.2003
ANB

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.